

## Implante de células mononucleares autólogas no manipuladas de médula ósea en insuficiencia cardíaca por enfermedad coronaria crónica

Óscar González-Ramella, Sergio Nájar, Silvio Cuneo-Pareto, Edgardo Flores, Karlen Gazarian, Antonio Carrasco Yalan

### RESUMEN

**Antecedentes:** el implante de células mononucleares autólogas no manipuladas de médula ósea por vía arterial o venosa transcoronaria ha demostrado su utilidad clínica en pacientes con enfermedades cardíacas crónicas y agudas. Para asegurar el nidamiento de células y alcanzar áreas ventriculares isquémicas e hipocinéticas se han utilizado diferentes procedimientos.

**Objetivo:** comunicar nuestra experiencia con el uso de células mononucleares autólogas no manipuladas de médula ósea en el tratamiento de pacientes con insuficiencia cardíaca crónica.

**Material y método:** estudio retrospectivo efectuado en 20 pacientes consecutivos, con mediana de edad de 62 años (límites 34 y 75), a quienes entre los meses de mayo de 2007 y julio de 2009 se hizo implante de células mononucleares no manipuladas de médula ósea por vía coronaria y retrocoronaria a través del seno coronario y sus principales venas. La relación femenino-masculino ratio 3/17; 95% de los pacientes tenían clase funcional NYHA entre II y III, con tres pacientes en NYHA IV. Ninguno de los pacientes eran aptos para cirugía de revascularización ni angioplastia. La fracción basal de eyección del ventrículo izquierdo (FEVI) fue 24.4% (límites 12 y 39). Después de firmar el consentimiento informado se les extrajo una mediana de volumen de 564 mL (límites 248-950) de médula ósea obtenida mediante punción iliaca. El leuco concentrado se realizó mediante el uso de HES al 6% y con centrifugación refrigerada en condiciones estériles. El concentrado de células mononucleares se implantó mediante coronariografía del seno venoso y arterias coronarias seleccionadas con oclusión previa de un catéter balón "over wire". La mediana de células mononucleares y CD34+ infundidas fue:  $1.6 \times 10^9$  y  $2.21 \times 10^7$ , respectivamente.

**Resultados:** durante y después del procedimiento no se observaron arritmias ni incremento de enzimas cardíacas o cambios hemodinámicos. Después de la mediana de tiempo de 20.1 meses, las células mononucleares autólogas no manipuladas de médula ósea produjeron la mejoría de la clase funcional NYHA. La mediana de la FEVI mejoró significativamente a 35.1% ( $p=0.003$ ). Entre los 18 pacientes evaluables, 13 (72%) redujeron, al menos, una clase funcional NYHA y cuatro permanecieron en la misma clase funcional NYHA, sólo un paciente incrementó de clase NYHA. No se encontró correlación entre cantidad de grupos celulares y mejoría del NYHA o de la FEVI.

**Conclusiones:** el implante de células mononucleares autólogas no manipuladas de médula ósea a pacientes con insuficiencia cardíaca es posible y seguro porque permite la infusión de grandes cantidades de células a los vasos coronarios pobremente irrigados. Este estudio sugiere la potencial disminución de los signos y síntomas y la mejoría en la capacidad funcional, perfusión miocárdica y contractibilidad mediante el implante de células mononucleares autólogas de médula ósea en pacientes con insuficiencia cardíaca.

**Palabras clave:** terapia celular, insuficiencia cardíaca, CD34, médula ósea.

### ABSTRACT

**Background:** Transcoronary unselected autologous bone marrow mononuclear cells (ABMMC) implant through coronary arteries or veins had shown clinical benefit in patients with acute and chronic heart diseases. Different procedures had been used to assure and improve cell homing and reach ischemic and hypokinetic ventricular areas.

**Objective:** Herein we show our outcomes using ABMMC in chronic heart failure (CHF)

**Material and method:** During May 2007 to July 2009, 20 consecutive patients, median age 62 years old (range 34-75), female/male ratio 3/17; 95% of the patients had II to III NYHA class with three patients with IV NYHA class. None of these patient were candidates for myocardial revascularization surgery neither angioplasty. Basal left ventricular ejection fraction (LVEF) was 24.4% (range 12-39). After signed informed consent, a median volume of 564 ml (range 248-950) of bone marrow was obtained from iliac puncture. Leuko-concentrated was performed using HES 6% and refrigerate centrifugation under sterile conditions. Concentrated mononuclear cells were implanted by coronarography of the venous sinus and in selected coronary arteries previous occlusion of the balloon «over wire». Median number of mononuclear and CD34+ cells infused were  $1.6 \times 10^9$  and  $2.21 \times 10^7$  respectively.

**Results:** During and after the procedures no arrhythmias or increase in enzymes or haemodynamic changes were observed. After a median time of 20.1 months, ABMMC led to significant improvement in functional NYHA class. Median ejection fraction improved significantly to 35.1% ( $p=0.003$ ). Among 18 evaluable patients, 13 (72%) reduced at less one NYHA class and 4 stayed at the same NYHA class, only one patient increase one NYHA class. There was no correlation between cells counts and NYHA or LVEF improvement.

**Conclusion:** Unselected ABMMC transplantation for CHF is feasible and safe; allows to infuse large volume of cells in quite poor irrigated coronary vessels. This study suggests the potential improvement of symptoms, functional capacity, myocardial perfusion and contractility of ABMMC transplantation in CHF.

**Key words:** Cellular therapy, cardiac failure, CD34, bone marrow.

El concepto tradicional que ha persistido durante años acerca de la incapacidad del corazón adulto para renovar sus células ha tenido que revisarse ante la evidencia de los resultados obtenidos en numerosos estudios que demuestran la existencia de células con capacidad proliferativa en el corazón humano.<sup>1-4</sup> El trasplante de corazón, aunque ha demostrado ser la solución definitiva de la insuficiencia cardiaca, no es aplicable a todos los pacientes, sobre todo por el déficit de donantes; por eso se requieren nuevas estrategias de tratamiento.<sup>5,6</sup>

La insuficiencia cardiaca es uno de los grandes síndromes cardiovasculares que más polémica e interés ha despertado en las últimas dos décadas por su elevada prevalencia, letalidad y costos que genera al sistema de salud y, en el plano individual, los inmensos porcentajes de incapacidad que produce.<sup>7</sup> La insuficiencia cardiaca es una epidemia devastadora que va en camino de convertirse en una gran pandemia; sólo en Estados Unidos se estima que alrededor de cinco millones de personas la padecerán y se diagnosticarán 400,000 casos anuales; el costo por todo lo vinculado con la atención de pacientes con insuficiencia cardiaca es aproximadamente de 70,000 millones de dólares.

La cardiopatía isquémica es la primera causa de muerte en la mayor parte de los países industrializados que puede llevar al individuo a la insuficiencia cardiaca si sigue el curso natural de la enfermedad y si no se corrigen los factores que pueden aumentar su severidad pueden llevar al remodelado ventricular.

El remodelado ventricular es un proceso por el que factores mecánicos, neuro humorales, y quizá genéticos, alteran el tamaño ventricular, su forma y función. Esto ocurre en varias situaciones clínicas, incluido el infarto

de miocardio, miocardiopatías, hipertensión arterial y enfermedades valvulares del corazón; se caracteriza por hipertrofia, pérdida de cardiomiocitos y aumento de la fibrosis intersticial. El infarto de miocardio, forma abrupta de manifestación de la cardiopatía isquémica, produce una pérdida aguda de cardiomiocitos en la zona afectada, que son sustituidos por tejido conectivo. En la actualidad se sabe que un infarto típico de miocardio que induce o provoca insuficiencia cardiaca mata, aproximadamente, mil millones de cardiomiocitos. La rehabilitación, como tratamiento de los pacientes con cardiopatía isquémica o insuficiencia cardiaca, o ambas, ha logrado ser útil y efectiva en la mejoría de su calidad de vida. Aunque no pueda restituirse el tejido conectivo por cardiomiocitos con función contráctil, ésta es su principal limitación.<sup>8-11</sup>

En los últimos años, los resultados de grandes estudios clínicos controlados han modificado de manera muy importante la terapéutica clínica, al haber demostrado mayor supervivencia y capacidad funcional; como ejemplo: The Consensus I y II, 1987 y 1992; The SOLVD, 1991; NETWORK, 1998 (con inhibidores de la convertasa) JESSICA, 1994; EMITA, 1997 (con amiodarona); FACT y REFLET, 1993 (con floseguinan); MDC, 1993; MEXIS, 1995; PRECISE, 1996; MERITHF, 1999 (con beta-bloqueadores). La incorporación de nuevos fármacos de efectividad comprobada y los adelantos tecnológicos y quirúrgicos, han modificado la historia natural y, por ende, las expectativas de vida de los pacientes con insuficiencia cardiaca y cardiopatía isquémica. Sin embargo, todavía un porcentaje elevado de pacientes sigue sin mostrar mejoría con el tratamiento farmacológico máximo y la morbilidad y mortalidad es progresiva con los años.

Ahora es posible inducir en el corazón adulto el desarrollo de cardiomiocitos, que es una estrategia prometedora en el tratamiento de la insuficiencia cardiaca y la cardiopatía isquémica. Sin embargo, las características específicas de las células cardiacas, y la idea que se ha mantenido a lo largo de muchos años acerca de su incapacidad para entrar en el ciclo celular y dividirse de forma activa, han hecho que este enfoque se haya descartado. Varios estudios actuales efectuados en animales y seres humanos han abierto nuevos horizontes en este tema.<sup>1-14</sup>

Frente a esta realidad, en los últimos años se ha desarrollado un gran esfuerzo por buscar alternativas de tratamiento más factibles y asequibles que beneficien a la mayoría de pacientes que padece esta enfermedad. Así, en

---

Hospital Civil de Guadalajara; Clínica Bernardette, Guadalajara; Sangre de Cordón, Guadalajara, Jal; Instituto de Investigaciones Biomédicas de la Universidad Nacional Autónoma de México, México DF, México.

Correspondencia: Dr. Antonio Carrasco Yalan. Correo electrónico: antonio1carrasco@hotmail.com  
Recibido: marzo 2012. Aceptado: abril 2012.

Este artículo debe citarse como: González-Ramella O, Nájara S, Cuneo-Pareto S, Flores E, Gazarian K, Carrasco-Yalan A. Implante de células mononucleares autólogas no manipuladas de médula ósea en insuficiencia cardiaca por enfermedad coronaria crónica. *Rev Hematol Mex* 2012;13(2):49-57.

[www.nietoeditores.com.mx](http://www.nietoeditores.com.mx)

la actualidad se ha abierto un nuevo y esperanzador campo de investigación y de aplicación clínica con el descubrimiento de la plasticidad de las células progenitoras y su utilización en terapia celular; es decir, la utilización de células progenitoras para el tratamiento de enfermedades crónico-degenerativas, colocándolas en el órgano o tejido lesionado para que éstas puedan reparar estructural y funcionalmente dicho órgano.

La aplicación clínica de la terapia celular o terapia regenerativa empezó a inicios del actual siglo, en el tratamiento de cardiopatías isquémicas agudas y crónicas, donde como paso inicial el implante de células mononucleares no manipuladas de médula ósea demostró ser factible y seguro (ausencia de complicaciones asociadas con el procedimiento). Los estudios posteriores, con diferentes fuentes de células troncales y progenitoras, utilizaron: tejido adiposo, músculo estriado y sangre de cordón umbilical; con la posterior selección de grupos celulares específicos como: células CD133+, mesenquimales, endoteliales y ALDH brillantes. A esto se agregó la técnica de implante que varió entre los estudios: aplicación intramural (con cirugía de tórax), aplicación intracoronaria, aplicación endocárdica y por seno venoso coronario.<sup>14-22</sup>

La terapia celular surge como una de las estrategias terapéuticas con futuro prometedor en el tratamiento de la insuficiencia cardíaca, aunque no exenta de controversias, lo que obliga a mayor conocimiento ante su aplicación clínica, lo que no contrapone iniciar ensayos clínicos que permitan un avance en esta dirección. Por esta razón, este ensayo clínico plantea que el implante de células mononucleares no manipuladas de médula ósea incrementa la fracción de eyección del ventrículo izquierdo y favorece positivamente la evolución de la insuficiencia cardíaca crónica.

Este estudio establece como objetivo primario: evaluar la seguridad del implante de células mononucleares no manipuladas de médula ósea por vía coronaria y retrocoronaria a través del seno coronario y sus principales venas. Como objetivos secundarios: evaluar el efecto del implante endovascular de células mononucleares no manipuladas de médula ósea en la fracción de eyección del ventrículo izquierdo y la evolución clínica, según la clase funcional por NYHA. Otro objetivo más es relacionar si existe una correlación directa entre células nucleadas totales, células mononucleares totales y células CD34+; con el incremento de la fracción de eyección del ventrículo izquierdo (FEVI) y mejora de la clase funcional NYHA.

## MATERIAL Y MÉTODO

Estudio retrospectivo al que se incluyeron 20 pacientes con insuficiencia cardíaca crónica resistente al tratamiento convencional, con fracción de eyección del ventrículo izquierdo inferior a 40%, que cumplieron los criterios de inclusión y exclusión para recibir implante de células mononucleares no manipuladas de médula ósea por vía coronaria y retrocoronaria a través del seno coronario y sus principales venas. Se incluyeron pacientes de uno y otro sexo que reunieron los siguientes criterios de inclusión: tener entre 18 y 80 años de edad, enfermedad coronaria crónica con fracción de eyección del ventrículo izquierdo inferior a 40%, resistencia al tratamiento médico convencional por insuficiencia cardíaca y angina, padecer insuficiencia cardíaca NYHA II-IV, con infarto reciente que haya sido tratado con angioplastia primaria con tiempo desde el último tratamiento del infarto de dos meses. Infarto agudo de miocardio con trombolisis fallida con tiempo desde el último tratamiento del infarto de dos meses. Pacientes no aptos para revascularización de cualquier tipo, no tratados con o sin angioplastia de algún vaso, pero que la angioplastia de ese vaso no modificó su pronóstico y que la angioplastia coronaria sirvió para favorecer el implante celular. Pacientes con coronariografía de enfermedad de múltiples vasos y con tejidos infartados no factibles de revascularización de cualquier tipo y quienes tuvieran arterias coronarias no permeables más allá del tercio medio.

Se excluyeron quienes tuvieron alguno de los siguientes criterios: evento coronario agudo que haya requerido atención hospitalaria en los últimos dos meses; seropositividad para VIH, hepatitis B o C activa, embarazadas y en periodo de lactancia, diagnóstico de cirrosis u otras enfermedades crónicas terminales, cáncer terminal o en tratamiento con quimioterapia, diagnóstico de infección crónica activa o en tratamiento, haber padecido en el mes previo alguna infección aguda severa, tratamiento crónico con corticoides, anemia moderada o severa, diagnóstico de enfermedad hematológica que implicara disfunción o insuficiencia medular, trastorno de la coagulación severo, insuficiencia renal crónica, inmunodeficiencias, alergia al yodo o a los medios de contraste vascular, antecedentes de asma o cualquier enfermedad generadora de insuficiencia respiratoria, insuficiencia hepática; antecedentes de

accidente cerebro vascular, discapacidad mental manifiesta, y que estuvieran siendo tratados con medicación antitrombótica o antiplaquetaria que contraindique el cateterismo.

Los criterios para la no evaluación final de la intervención fueron: infección aguda severa durante los primeros 90 días posimplante; otras circunstancias que condicionaran severo estrés al paciente durante los primeros 90 días postimplante: traumatismo mayor, embarazo, etc., pacientes con pérdida de seguimiento hasta los 90 días postimplante. Pacientes con seguimiento o controles incompletos (menos de tres controles postimplante o falta de control al tercero y sexto meses postimplante).

Los pacientes que reunieron los criterios de inclusión se refirieron al centro hospitalario con un resumen de su historia clínica para programación del tratamiento. Durante la entrevista recibieron toda la información detallada de su participación en el estudio, el tratamiento que recibirían, las posibles complicaciones y lo que se espera del mismo. Quienes desearon participar firmaron por duplicado el Consentimiento Informado de aceptación donde se especificaba el objetivo del estudio y las posibles complicaciones del procedimiento.

El mismo día que los pacientes firmaron el consentimiento informado, se programaron para la toma de muestras sanguíneas necesarias para los estudios de: hemograma, perfil de coagulación: tiempo de trombina, tiempo de tromboplastina parcial activada, tiempo de protrombina, pruebas de función hepática, creatinina y depuración de creatinina, perfil lipídico, electrocardiograma, ecocardiograma con determinación de fracción de eyección del ventrículo izquierdo (FEVI), grupo sanguíneo Rh y radiografía de tórax postero anterior.

Los pacientes aceptados se hospitalizaron para completar cualquier estudio pendiente antes de entrar a la sala de operaciones o, de ser el caso, a la sala de hemodinámica.

### **Procedimientos de extracción e implante de mononucleares de médula ósea**

#### ***Extracción de médula ósea***

En la sala de operaciones se aspiraron, de ambas crestas iliacas, aproximadamente 500 mL de médula ósea, máximo 10 mL/kg. La médula ósea se colocó, mediante una llave de doble vía, en una bolsa de sangre con anticoagulante (heparina a la bolsa de colecta 7500 UI). Para el procedimiento de extracción de médula ósea sólo se utilizó

sedo-analgésia (con fentanilo, midazolam o propofol, solos o en combinación, según criterio del anestesiólogo) y anestesia local con 5 a 10 cc de xilocaína al 2% sin epinefrina, colocada en ambas crestas iliacas.

El procedimiento de extracción se realizó por dos médicos hematólogos que trabajaron simultáneamente, cada uno en cada cresta iliaca con la aguja Harvest Needle with side hole, MD Tech BMHN1304VX.

Luego del procedimiento de extracción de médula ósea, el paciente retornó a su habitación para luego ser llevado 3 a 4 horas después a la sala de hemodinámica para el implante de las células mononucleares de médula ósea. Cuando hubo dolor no tolerable en la zona de punción, se aplicaron analgésicos orales o parenterales, según fuera el caso.

El material obtenido se remitió a un laboratorio para leucoconcentración de la médula ósea a un volumen final de 100 a 120 mL. La médula ósea depleta de glóbulos rojos mediante el uso de HESTAR 6% y retiro manual de plasma, retornó a la sala de hemodinámica.

### **Procedimiento de implante de células mononucleares no manipuladas de médula ósea**

En la sala de hemodinámica, tres a cuatro horas después de la extracción de médula ósea, el paciente fue sometido, mediante cateterismo, al implante de células mononucleares no manipuladas de médula ósea. El implante celular se efectuó con una inyección retrógrada en el seno venoso coronario a través de un catéter balón de angioplastia coronaria "over wire" que se colocó en el tercio inicial del seno venoso coronario y arterias coronarias con el propósito de "estancar" el flujo coronario.

Se colocó un balón en el seno venoso coronario que se cateterizó a través de una punción subclavia, con un catéter Amplatz de coronaria izquierda mediante el que se colocó un balón ocluser y se efectuó un venografía coronaria retrógrada, previa al procedimiento. Se procedió a inflar el balón ocluser venoso coronario que permaneció inflado aproximadamente durante 10 a 15 minutos.

Luego de inflar el balón ocluser venoso a baja presión, se procedió a inyectar la suspensión de células mononucleares de médula ósea a través del orificio distal del catéter balón ocluser venoso. El balón inflado permaneció entre 13 y 15 minutos; en ese lapso se inyectaron entre 30 hasta 50 mL de suspensión celular. La inyección venosa coronaria se efectuó a una presión de seis atmósferas

con jeringa manual. Puesto que todo el procedimiento se realizó bajo heparinización general, la cánula venosa se retiró a la media hora de finalizado el procedimiento en la unidad coronaria.

El volumen total del concentrado de células mononucleares no manipuladas de médula ósea enviado del laboratorio (rotulado con la inscripción: “*células mononucleares no manipuladas de médula ósea*”) se infundió en el seno coronario y las arterias coronarias.

Para infundir las células mononucleares no manipuladas de médula ósea, el concentrado se cargó en jeringas de 20 mL y se procedió a inyectar ese volumen a través del catéter. Al finalizar cada infusión se lavó el lumen del catéter con 5 o 10 mL de suero fisiológico para asegurar que se infundieron todas las células mononucleares no manipuladas de médula ósea que pudieran quedar en el lumen. Al finalizar el procedimiento, el paciente permaneció en decúbito dorsal en su cama, sin poder movilizarse hasta que el médico intervencionista lo indicó.

#### *Seguimiento inmediato postimplante de células mononucleares no manipuladas de médula ósea*

Para el implante de células mononucleares no manipuladas de médula ósea, los pacientes se hospitalizaron durante 2 o 3 días por la posibilidad de que sobreviniera alguna complicación en el postcateterismo inmediato, elevación de enzimas de reacción aguda, daño al miocardio, arritmias u otras.

En la noche del mismo día del procedimiento y por dos días seguidos se realizó una evaluación médica. Durante ésta se preguntó por algún tipo de dolor u otras molestias y se hizo un examen clínico.

#### *Seguimiento posterior postimplante de células mononucleares no manipuladas de médula ósea*

El médico tratante fue quien hizo el seguimiento de cada paciente trasplantado y quien decidió e indicó la medicación, la dieta y el ejercicio individualizados. Durante el seguimiento los pacientes se entrevistaron, evaluaron clínicamente y controlaron con estudio de ecocardiografía.

#### **Análisis estadísticos**

La finalidad fue identificar si durante el procedimiento, desde el aspirado de médula ósea hasta 24 horas post-implante, hubo o no alguna complicación. El análisis estadístico se realizó con el software SPSS v 15.0 para demostrar la diferencia de medias de datos pareados con T de Student para la variación

de la FEVI. Para determinar si la cantidad total de células implantadas se relaciona con los cambios de la fracción de eyección del ventrículo izquierdo se realizó la correlación binomial (correlación de Pearson).

## **RESULTADOS**

Del mes de mayo de 2007 al de julio de 2009, se incluyeron al protocolo 20 pacientes que cumplieron los criterios de inclusión y exclusión, firma de consentimiento informado y aceptación del protocolo por el comité de ética institucional de la Clínica Bernardette en Guadalajara, Jalisco, México. Las características basales se muestran en el Cuadro 1. En total se realizaron 25 procedimientos.

**Cuadro 1.** Características basales

<i>n</i> = 20	%
Mediana de edad en años (min-max)	62 (34-75)
Relación mujeres-hombres	3/17
Hipertensión arterial n (%)	7 (35)
Dislipidemia n (%)	8 (40)
Diabetes mellitus n (%)	2 (10)
Infarto de miocardio previo n (%)	9 (45)
Insuficiencia cardiaca n (%)	19 (95)
Cateterismo o puentes coronarios previos n (%)	3 (15)
Angina isquémica n (%)	3 (15)
NYHA I - II - III - IV	1 / 5 / 11 / 3
Fracción de eyección del ventrículo izquierdo (%), mediana (máxima-mínima)	24.4 (12-39)

Todos los pacientes (excepto uno) tenían insuficiencia cardiaca, de los que nueve tenían cardiopatía dilatada. El paciente sin insuficiencia cardiaca tenía cardiopatía isquémica crónica.

La mediana de volumen de extracción de médula ósea fue de 564 mL (límites: 248 y 950 mL) con medianas de infusión de  $7.0 \times 10^9$  células nucleadas totales (límites:  $3,1 \times 10^9$  -  $11,3 \times 10^9$ );  $1,6 \times 10^9$  células mononucleares totales (límites:  $0,7 \times 10^9$  -  $2,9 \times 10^9$ ) y  $2,21 \times 10^7$  células CD34+ (límites:  $1,3 \times 10^6$  y  $8,12 \times 10^7$ )

#### **Objetivo primario: datos de seguridad**

El implante de células mononucleares no manipuladas de médula ósea fue seguro y sin eventos adversos serios y no serios en los 20 pacientes y 25 procedimientos realizados.

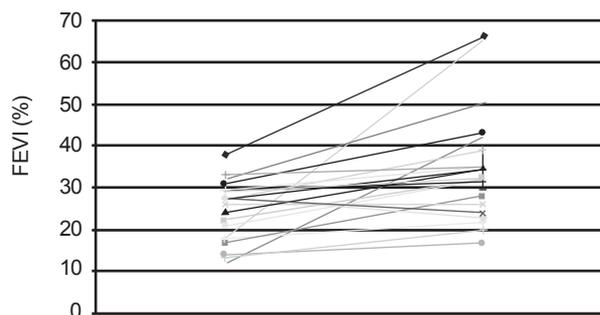
Los estudios de laboratorio peri procedimiento mostraron ausencia de inflamación o infarto de miocardio. No se registraron arritmias ventriculares durante el implante o posthospitalización. No se observó efusión pericárdica postimplante mediante ecocardiografía. Los pacientes salieron del hospital entre los 2 a 3 días postprocedimiento para seguimiento posterior en forma ambulatoria.

A cinco pacientes fue necesario realizarles otro procedimiento; cuatro de ellos para optimizar la respuesta clínica y al otro por deficiente respuesta al primer procedimiento. Dos pacientes fallecieron después del segundo procedimiento debido a complicaciones no relacionadas con el implante de células mononucleares no manipuladas de médula ósea; uno de ellos por mediastinitis por cirugía cardíaca por valvulopatía y otro por neumonía extrahospitalaria.

**Objetivos secundarios: evolución clínica**

De los 20 pacientes, dos no tuvieron seguimiento posterior al salir del hospital, por lo que los pacientes evaluables para objetivos secundarios fueron 18. La mediana de seguimiento de los 18 pacientes evaluables fue de 20.1 meses (límites 4.2 y 31.4 meses). La valoración de la fracción de eyección del ventrículo izquierdo (FEVI) se realizó a la mediana de tiempo postprocedimiento de 14.2 meses (límites de 3.2 y 24.4 meses). De los 18 pacientes, 15 incrementaron el valor de la FEVI (83%), uno sin variación (6%) y dos (11%) con disminución de la FEVI a los 5 y 24 meses postprocedimiento. La variación del FEVI ( $\Delta$ FEVI) fue de 10.7% (Cuadro 2 y Figura 1).

Los cambios en la clase funcional están señalados en el Cuadro 3. La valoración de ésta en los 18 pacientes evaluables mostró: mejoría en al menos un punto de la clase funcional en 13 pacientes (72%), igual clase funcional en 4 pacientes (22%) y deterioro en la clase funcional en 1 paciente (6%). Destaca que 3 de los 11 pacientes NYHA III pasaron a NYHA I, es decir que hubo mejoría en dos clases funcionales. Si sólo se consideran pacientes NYHA III-IV que pudieron tener



**Figura 1.** Cambios en la FEVI (basal y seguimiento) n=18

control posterior (n= 12), todos menos uno mejoraron (92%) al menos una clase funcional NYHA.

Se evaluó si hubo alguna correlación significativa entre  $\Delta$ FEVI y mejora de la clase funcional; y cantidad de células nucleadas totales, células mononucleares totales y células CD34+ implantadas. Ninguno de los parámetros celulares mostró correlación directa ni inversa significativa con el incremento de la FEVI y de la clase funcional.

**DISCUSIÓN**

Por lo general, se aceptaba que el aumento de la masa cardíaca contráctil en el adulto sólo podía lograrse con la hipertrofia de los miocitos existentes. La evidencia de generación miocárdica en el estrés ha desafiado este dogma, y ha propuesto que la renovación de los miocitos es fundamental en la homeostasis cardíaca.<sup>22-38</sup>

Urbanek y colaboradores<sup>39</sup> reportaron un estudio de pacientes con estenosis aórtica, aumento de la masa miocárdica producto de una combinación de hipertrofia e hiperplasia de miocitos, esta última es el resultado de la diferenciación de stem cell (SC) de la misma línea celular de los miocitos. También Anversa<sup>40</sup> y su grupo

**Cuadro 2.** Incremento en los valores de FEVI

$\Delta$ FEVI	Basal (n=18)	Seguimiento (n=18)	Valor p
FEVI (%) Promedio	24.4 %	35.1 %	0.003

**Cuadro 3.** Cambios en clase funcional NYHA (basal)

	NYHA (seguimiento)				
	I	II	III	IV	Sin seguimiento
I (n=1)	1				
II (n=5)	2	2	1		
III (n=11)	3	6	1		1
IV (n=3)			2		1

plantean que desde el momento del nacimiento hasta la edad adulta, existe un equilibrio entre los estímulos que promueven el crecimiento de tamaño de los miocitos y los que pueden conducir a la apoptosis o muerte programada y la necrosis. El hecho que determinados procesos patológicos puedan provocar la muerte de cardiomiocitos y otras células cardiacas de forma tan importante, cuestiona el concepto de que el miocardio no tiene recambio celular, y de que las células que existen poco después de nacer son las que permanecerán a lo largo de la vida del individuo.<sup>28-32</sup>

Las SC han demostrado su eficacia en la mejoría clínica de los pacientes tratados, pero el mecanismo por el que el trasplante de cardiomiocitos mejora la función cardiaca aún se desconoce; se sugiere: atenuación de la expansión del infarto, por las propiedades de los cardiomiocitos, o angiogénesis inducida por factores de crecimiento secretados por citocinas existentes en estas células que resultan en mejoría del flujo colateral de sangre.<sup>33-35</sup>

Strauer y colaboradores reportaron en el 2002<sup>36</sup> el primer estudio en seres humanos de trasplante autólogo de SC proveniente de la médula ósea, en un paciente con infarto agudo de miocardio con impresionantes resultados, a las diez semanas se observó disminución del tamaño del infarto e incremento de la fracción de eyección ventricular, del índice cardiaco y del volumen sistólico en comparación con los pacientes que no recibieron terapia celular. Esta mejoría de la función ventricular se atribuyó al aumento de la perfusión miocárdica medida mediante isótopos radiactivos.

Se han publicado no menos de siete estudios clínicos en los que se han utilizado las vías intracoronaria, subendocárdica o intramiocárdica; se han implantado células mononucleares de médula ósea, células enriquecidas en progenitores hematopoyéticos o endoteliales, o mioblastos, y los resultados se han monitorizado mediante técnicas de imagen como resonancia magnética, ecocardiografía o tomografía por emisión de positrones. Todos los pacientes han recibido, además de las células, tratamientos adicionales.<sup>37-54</sup> Algunos estudios mostraron eventos adversos como arritmias con el uso de mioblastos.<sup>55</sup>

Nuestros resultados reproducen las experiencias de otros grupos y se fundamentan en tres elementos:

1. Seguridad del procedimiento, que puede repetirse para optimizar la respuesta. Está exento de eventos adversos serios y no serios.

2. La FEVI se incrementó, en promedio, 10.7% lo que favoreció a 83% de los pacientes evaluables. Si bien en algunos paciente el incremento fue pequeño, hubo un caso que requirió dos procedimientos con  $\Delta$  FEVI de 47%.
3. Mejoría en la clase funcional por NYHA como parámetro clínico indiscutible: 72% de los pacientes evaluables mejoraron, al menos, una clase funcional y este porcentaje fue mucho mayor en los pacientes NYHA III-IV evaluables en la que se logró 92% de mejoría en una clase funcional.

Es pertinente considerar algunos aspectos adicionales a estudiar en los pacientes reclutados en este estudio:

- De lo 20 pacientes, hay 18 a los que se les puede realizar estudio funcional cardiaco con resonancia magnética para determinar: viabilidad miocárdica, remodelación miocárdica y volúmenes sistólicos-diastólicos finales del ventrículo izquierdo.
- Los estudios de resonancia magnética a un promedio de tiempo postterapia de 20 a 24 meses permitirán determinar si las mejoras en la  $\Delta$  FEVI son sostenibles en el tiempo.

Los resultados obtenidos garantizan continuar con estudios similares en pacientes con cardiopatía crónica, principalmente en insuficiencia cardiaca, que no respondan a terapia farmacológica y a los que no se les pueden ofrecer otras estrategias terapéuticas, como stent, cirugía, sincronizador cardiaco o combinación de cualquiera de ellas. De igual forma, al no encontrar correlación en cantidad de células nucleadas totales, mononucleares o CD34+ con  $\Delta$  FEVI debe moderarse el volumen de médula ósea obtenida a 5 mL/kg de peso; con la posibilidad de selección de grupos celulares específicos o cultivos.

En virtud de los resultados obtenidos en este estudio clínico, se recomienda la elaboración de uno nuevo con aproximadamente 30 pacientes con diagnóstico de insuficiencia cardiaca NYHA III-IV con FEVI menor o igual a 35%, con la utilización de la misma técnica de implante y de procesamiento celular; además de estudios de resonancia magnética preliminar y a los 12 meses y a los 24 meses postprocedimiento. Los pacientes con insuficiencia cardiaca NYHA III-IV y FEVI  $\leq$ 35% se favorecen de manera muy significativa con el procedimiento y se logra la disminución de la morbilidad y mortalidad por insuficiencia cardiaca.

## REFERENCIAS

1. Körbling M, Estrov Z. Adult stem cells for tissue repair. A new therapeutic concept? *N Engl J Méd* 2003; 349:570-582.
2. Strauer BE, Brehm M, Zeus T, et al. Repair of infarcted myocardium by autologous intracoronary mononuclear bone marrow cell transplantation in humans. *Circulation* 2002; 106:1913-1918.
3. Stamm C, Westphal B, Kleine HD, et al. Autologous bone-marrow stem-cell transplantation for myocardial regeneration. *Lancet* 2003; 361:45-46.
4. Assmus B, Schachinger V, Tempe C, et al. Transplantation of progenitor cells and regeneration enhancement in acute myocardial infarction. *Circulation* 2002; 106: 3009-3017.
5. VIVA Trial TD Henry et al. *Circulation* 2003;107:1359-1365.
6. Assmus B, et al. Transplantation of Progenitor Cells and Regeneration Enhancement in AMI (TOPCARE-AMI). *Circulation* 2002;106:3009-3017.
7. Lederman R, et al. TRAFFIC Study. *Lancet* 2002; 359: 2053-58.
8. Tateishi-Yuyama E, et al. Angiogenesis for patients with Limb Ischaemia by Autologous transplantation of Bone-marrow cells. *Lancet* 2002; 360: 427-435.
9. Giodano FJ, et al. Retrograde coronary perfusion: a superior route to deliver therapeutics to the heart?. *JACC* 2003; 42:1129-1131.
10. Perin PC, Dohman HFR, Borojevic R, et al. Transendocardial autologous bone marrow cell transplantation for severe, chronic ischemic heart failure. *Circulation* 2003; 107:2294-2302.
11. Gensini G, Di Giorgi S, Murad S, et al. The coronary circulation: a roentgenographic study. Booth # 91 Eleventh Annual Convention The American College of Cardiology. May 29,30,31, June 1, 1962 Denver, Colorado.
12. Murad-Netto S, et al. Importância do cateterismo do seio coronário no diagnóstico da insuficiência coronária. II Simpósio Nacional sobre aterosclerose coronária. São Paulo,1973 Editor J. Eduardo M.R. Sousa, 63-67.
13. Hyun-Jae Kang, Hyo-Soon Kim et al. Effects of intracoronary infusion of peripheral blood stem cells mobilized with. Seoul Nat. University. *The Lancet* 2004;363.
14. Patel AN, Geffner RL, Fernandez V, et al. Cardiothorax Surgery University of Pittsburg, Benetti Foundation rosario Argentina, Baylor Univ. Medical Center Dallas Texas. Surgical treatment for congestive Heart Failure using Autologous Adult Stems cells transplantation. *Journal Cardiothorax*.
15. Stem cell therapy for acute myocardial infarction through retrograde coronary perfusion: a new technique. Stans Murad Netto, MD, PhD; Roberto Fernandez Viña, MD, Rogério Moura, MD; Antônio Manoel Neto, MD; Neison Duarte, MD; Fernando Barreto, MD; André Jensen, MD, MD; Jorge Saslavsky, MD; Marcelo Fernández Viña, MD; Luiz Martins Romeo, MD, PhD; José Geraldo Amino, MD. Instituto do Coração e da Criança do Rio de Janeiro – Rio de Janeiro - Brasil Fundacion Don Roberto Fernandez Viña/ Centro Cardiovascular - San Nicolas – Argentina Georgetown University ( Department of Oncology and Immunology ) – Washington-EUA Universidade Federal Fluminense - UFF - Niterói – Brasil Presentado en Sociedad Brasileira de Cardiologia 2003 Diciembre
16. Fernandez Viña y col. The increased of C-peptide level in type I diabetes after transplant of adult hematopoyetic mononuclear CD 34+ CD 38+ (TECELDIAB). *Cytotherapy* 2006; 8, suppl 1, abst 39.
17. Massie BM, Shah NB. The heart failure epidemic: magnitude of the problem and potential mitigating approaches. *Curr Opin Cardiol* 1996;11:221-26.
18. Senni M, Tribouilloy CM, Rodeheffer RJ, Jacobsen SJ, Evans JM, Bailey KR et al. Congestive heart failure in the community. A study of all the incident cases in Olmsted County, Minnesota, in 1991. *Circulation* 1998;98:2282-9.
19. Garg R, Packer M, Pitt B, Yusuf S. Heart failure in the 1990S: evolution of a major public health problem in cardiovascular medicine. *J Am Coll Cardiol* 1993;22(Suppl A):A3-A5.
20. Parmley WW. Pathophysiology of conestive heart failure. *Clin Cardio* 1992;15(Suppl II):5-12.
21. Massie BM, Shah NB. Evolving trends in the epidemiologic factors of heart failure: rationale for preventive strategies and comprehensive disease management. *Am Heart J* 1997;133:703-12.
22. Ho KKL, Pinsky JL, Kannel WB, Levy D. The epidemiology of heart failure: the Framingham Study. *J Am Coll Cardiol* 1993;22(Sppl A):6A-13A.
23. Brotons C, Moral I, Rivera A, Pérez G, Cascant P, Bustins M, et al. Tendencias de la morbimortalidad por insuficiencia cardiaca en Cataluña. *Rev Esp Cardiol* 1998;51:972-6.
24. American Heart Association. 2001 Heart and Stroke Statistical Update. Dallas: American Heart Association; 2000.
25. Kannel WB. Epidemiology of heart failure in United States. En: Poole-Wilson PA, Colucci WS, Massie BM, Chatterje K, Coats AJS, eds. *Heart Failure*. New York: Churchill Livingstone;1997.
26. Sutton MGSJ, Sharpe N. Left ventricular remodelling after myocardial infarction: pathophysiology and therapy. *Circulation* 2000;101:2981-8.
27. Eichhorn EJ, Bristow MR. Medical therapy can improve the biological properties of the chronically failing heart: a new era in the treatment of heart failure. *Circulation* 1996;94:2285-96.
28. Jessup M, Arozena S. *Heart Failure*. *N Engl J Med* 2003;348(20):2007-18.
29. Izhak K, Lior G. Human embryonic stem cell derived cardiomyocyte for Myocardial repair; present state and future perspective. *J Israel Heart Soc* 2002;12(2):4-11.
30. Barrera JDS, Rivas EE, Álvarez JAG, Hernández RG. Rehabilitación cardiaca en el anciano. *Rev Cubana Cardiol Cir Cardiovas* 2001;15(1):31-5.
31. Bristow MR, Gilbert EM, Abraham WT. Carvedilol produces dose-related improvements in left ventricular function and survival in subjects with chronic heart failure. MOCHA (Multi-center Oral Carvedilol Heart Failure Assessment). *Circulation* 1994;94:2807-16.
32. CIBIS II Investigators and Commitees. The Cardiac Insufficiency Bisoprolol Study II (CIBIS-II). A randomezed trial. *Lancet* 1999;353:9-13.
33. Carpentier A, Chachques JC. Myocardial substitution with a stimulated skeletal muscle: first successful clinical case (letter). *Lancet* 1985;1:1267.
34. Revuelta JM. Operación Batista: realidad o ficción. *Rev Esp Cardiol* 2000; 53:1021.
35. Pérez de la Sota E, Rodríguez JE, Cortina JM, Randas Batista JV, López MJ. Resultados precoces de la ventriculectomía parcial izquierda (operación Batista). *Rev Esp Cardiol* 2000;53:1022-7.

36. Cerdán G, Artigas V, Romero BF, Rodríguez M, Ayats E, Allende L, et al. Complicaciones abdominales graves en los pacientes sometidos a trasplante cardiaco: el problema de la inexpresividad clónica. *Rev Esp Cardiol* 2000;53:916-26.
37. Strauer BE, Brehm M, Zeus T, Kostering M, Hernández A, Sorg RV, et al. Repair of infarcted myocardium by autologous intracoronary mononuclear bone marrow cell transplantation in human. *Circulation* 2002;106:1913-1918.
38. Tam SK, Gu W, Mahdavi V, Nadal-Ginard B. Cardiac myocyte terminal differentiation. Potential for cardiac regeneration. *Ann NY Acad Sci* 1995;752:72-9.
39. Nadal-Ginard B. Inducción de nuevos cardiomiocitos en el corazón adulto: futuro de la regeneración miocárdica como alternativa al trasplante. *Rev Esp Cardiol* 2001;54:543-50.
40. Urbanek K, Quaini F, Tasca G, Torella D, Castaldo C, Nadal-Ginard B. Intense myocyte formation from cardiac stem cell in human cardiac hypertrophy. *PNAS* 2003;100(18):10445.
41. Anversa P, Palackal T, Sonnenblick EH, Olivetti G, Megges LG, Capasso JM. Myocyte cell loss and myocyte cellular hyperplasia on the hypertrophied aging rat heart. *Circ Res* 1990;67:871-885.
42. Endo T, Nadal-Ginard B. Reversal of myogenic terminal differentiation by SV 40 large T antigen results in mitosis and apoptosis. *J Cell Sci* 1998;111:1081-93.
43. Leri A, Barlucchi L, Limana F, Deptala A, Darzynkiewicz Z, Hintze TH, et al. Telomerase expression and activity are coupled with myocyte proliferation and preservation of telomeric length in the failing heart. *Proc Natl Acad Sci* 1991;98(15):8626-31.
44. Beltrami AP, Barlucchi L, Torella D, Baker M, Limana F, Chimenti S, et al. Adult cardiac stem cells are multipotent and support myocardial regeneration. *Cell* 2003;114(6):763-76.
45. Chimenti C, Kajstura J, Torella D, Urbanek K, Heliński H, Cusi C, et al. Senescence and death of primitive cells and myocytes lead to premature cardiac aging and heart failure. *Circ Res* 2003;93(7):604-13.
46. Urbanek K, Quaini F, Tasca G, Torella D, Castaldo C, Nadal-Ginard B, et al. Intense myocyte formation from cardiac stem cells in human cardiac hypertrophy. *Proc Natl Acad Sci* 2003;100(18):1440-1445.
47. Nadal-Ginard B, Kajstura J, Anversa P, Annarosa L. A matter of life and death: cardiac myocyte apoptosis and regeneration. *J Clin Invest* 2003;111(10):1457-1459.
48. Orlic D, Hill JM, Ara AE. Stem cell for Myocardial Regeneration. *Circ Res* 2002;91:1092-102.
49. Cardoso FP, González JH, Alegría Ezquerro AE. Utilización de células madres para la regeneración miocárdica en la insuficiencia cardiaca. *Rev Esp Cardiol* 2003;56:935-939.
50. Beltrami AP, Urbanek K, Kajstura J, Yan SM, Finato N, Bussani R, et al. Evidence that human cardiac myocytes divide after myocardial infarction. *N Engl J Med* 2001;344:1750-1757.
51. Jiang Y, Jahagirdar BM, Reinhardt RL, Schewartz RE, Keene CD, Ortiz-González XR, et al. Pluripotency of mesenchymal stem cell derived from adult marrow. *Nature* 2002;418:41-49.
52. Seale P, Asakura A, Rudnicki MA. The potential of muscle stem cell. *Dev Cell* 2001;1:333-342.
53. Tse HF, Kwong YL, Chan JK, Lo G, Ho CL, Lau CP. Angiogenesis in ischaemic myocardium by intramyocardial autologous bone marrow mononuclear cell implantation. *Lancet* 2003;361:47-49.
54. Menasché P, Hagege AA, Vilquin JT, Desnos M, Abergel E, Pouzet B, et al. Autologous skeletal myoblast transplantation for severe postinfarction left ventricular dysfunction. *J Am Coll Cardiol* 2003;41:1078-1083.
55. Pagani FD, DerSimonian H, Zawadzka A, Wetzel K, Edge ASB, Jacoby DB, et al. Autologous skeletal myoblasts transplanted to ischemia-damaged myocardium in humans. *J Am Coll Cardiol* 2003;41:879-888.
56. Menasché P, Hagege AA, Scorsin M, Pouzet B, Desnos M, Duboc D, et al. Myoblast transplantation for heart failure. *Lancet* 2001;357:279-280.